

合欢花对慢性应激大鼠 生长和脑单胺类神经递质含量的影响

张 峰¹, 李法曾^{2,*}

(1. 山东省教育学院 生命科学与技术系, 山东 济南 250013; 2. 山东师范大学 生命科学学院, 山东 济南 250014)

摘要: 为探讨合欢花对慢性应激大鼠生长和脑单胺类神经递质的影响, 采用 15 只大鼠, 设置了对照组、应激组和合欢花组 3 组实验。应激组和合欢花组均接受 7 天的应激刺激, 之后合欢花组再灌胃合欢花 10 天。实验结束后, 取 3 组大鼠的脑组织, 用高效液相色谱法测定高香草酸 (HVA)、去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA) 和 5-羟色胺 (5-HT) 的含量。结果表明, 应激组大鼠日增重显著低于对照组 ($P=0.011$); 而合欢花组大鼠的日增重极显著高于应激组 ($P=0.002$)。应激组大鼠海马、纹状体和前额叶中的 HVA 含量与对照组相比, 虽有升高的趋势, 但无显著差异; 两组间的 NE、DA 和 5-HT 也无显著差异。合欢花组大鼠海马中的 HVA、DA 含量明显高于应激组, 而前额叶中的多巴胺和 5-羟色胺, 以及纹状体中的 5-羟色胺均明显低于应激组。这表明合欢花对慢性应激引起的大鼠生长受抑有缓解作用, 对其脑内单胺类神经递质有调节作用。

关键词: 大鼠; 应激; 合欢花; 生长; 单胺类神经递质

中图分类号: Q959.837; Q41 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254–5853 (2006) 06–0621–05

Effect of *Albizia julibrissin* on Growth and Brain Monoamine Neurotransmitters in Chronic-Stressed Rats

ZHAND Feng¹, LI Fa-zeng^{2,*}

(1. Department of Life Sciences and Technology, Shandong College of Education, Jinan 250013, China;

2. College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Abstract: The study was conducted to investigate the effects of *Albizia julibrissin* on growth and brain monoamine neurotransmitters in chronic-stressed rats. Fifteen rats were divided into three groups including the control group, stressed group and *Albizia julibrissin* treated group. The rats in both the stressed and treated groups were stressed for seven days, and the rats in the treated group were fed with *Albizia julibrissin* by gavage administration for 10 days after stress. At the conclusion of the experiment, brain tissues were collected from the three groups to analyze the content of homovanillic acid (HVA), norepinephrine (NE), dopamine (DA) and 5-hydroxytryptamine (5-HT). The indices above were determined by high pressure liquid chromatogram (HPLC). The results showed that the daily growth in mass of rats in the stressed group significantly decreased compared with the control group ($P=0.011$), while the *Albizia julibrissin* treated group had a higher growth than that of the stressed group ($P=0.002$). The HVA levels of the hippocampus, striatum and prefrontal lobes in the stressed group were not significantly different from the control group, though there was a tendency for higher levels in the stressed group. The stress had no significant effects on levels of NE, DA and 5-HT. The levels of HVA and DA in the hippocampus in the *Albizia julibrissin* treated group were significantly higher than those of the stressed group, while DA and 5-HT of the prefrontal lobes and 5-HT of the striatum were significantly lower than the stressed group. These results suggest that *Albizia julibrissin* alleviates the growth inhibition caused by stress, and regulates the levels of monoamine neurotransmitters of the brain in stressed rats.

Key words: Rat; Stress; *Albizia julibrissin*; Growth; Monoamine neurotransmitter

* 收稿日期: 2006–08–28; 接受日期: 2006–10–16

基金项目: 山东省自然科学基金 (Z-2002D04) 资助项目

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: lifz@sdnu.edu.cn

第一作者 E-mail: zhangFeng8777@sohu.com

应激对动物和人能产生广泛而复杂的生物学效应,并可导致焦虑、抑郁等。昼夜颠倒可引起小鼠焦虑 (Peng et al, 2005; Lin et al, 2003)。强迫游泳和尾悬挂可导致小鼠抑郁,自发活动减少 (Li et al, 2003)。抑郁性神经症病人血中皮质醇含量升高,而生长激素降低 (Zhu, 2002)。应激对机体产生许多不利影响,如何防止或减轻其不利影响已引起了人们的关注。Peng et al (2004) 发现黄连素能改善焦虑大鼠的探索活动,降低其脑干去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺的含量;低频磁刺激能改善慢性应激抑郁大鼠的抑郁行为,提高大鼠脑内 5-羟色胺和多巴胺的含量 (Chen et al, 2005)。合欢花水提物能明显缩短强迫游泳和悬尾实验中小鼠的不动时间,减少其在开场实验中的自发活动,说明合欢花水提物有对抗“行为绝望”动物模型的抑郁作用 (Li et al, 2003)。合欢花 (*Albizia julibrissin* Durazz) 是常用中药,具有解郁安神之功效,常用于治疗心神不安,忧郁失眠。鉴于此,我们拟采用合欢花来研究对慢性不可预见性应激大鼠脑内单胺类神经递质的影响,以探讨合欢花在应激中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物和实验设计

实验用 SD 大鼠由山东大学实验动物中心提供。选用 15 只健康雄性大鼠,体重在 250—300 g 之间。将 15 只大鼠随机分为 3 组,即正常对照组、应激组和合欢花组。对照组不给予任何刺激,应激组和合欢花组均接受慢性应激处理,刺激条件包括断水 24 h、用止血钳夹尾部 1 min、40℃ 环境 5 min、4℃ 冰水游泳 3 min、昼夜颠倒 24 h (8:00—18:00 放入暗室,18:00—次日 8:00 置于光下)、禁食 24 h 和水平震荡 (160 次/min) 45 min 等 7 种刺激。每日仅接受其中的一种,连续处理 7 d。除在接受断水和禁食期间外,动物均能自由饮水和进食。合欢花组在刺激结束后,每天每只大鼠再灌胃 0.519 g 合欢花药物,灌胃时先将合欢花粉末溶于 3 mL 水再灌,连续灌胃 10 d。实验所用合欢花由山东中医药大学附属医院药房提供。用前先将合欢花放入 60℃ 的 IC-型热风循环烘干箱 (江阴市药机设备厂制造) 烘 24 h,取出凉透后放入红旗 310 型粉碎机 (山东省淄博粉碎机厂制造) 制成颗粒,然后再放

入 SF-200C 高速粉碎机 (上海中药机械厂制造) 粉碎成细粉,过 80—100 目筛后再用。在整个实验期间,每组 5 只大鼠饲养在一起。饲养条件:室内温度控制在 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$,自然光照,自由饮水和进食。在实验开始、应激刺激结束和实验结束后称重大鼠。3 组大鼠均在实验结束后断头处死,取其脑,在冰上快速分离出海马、纹状体、前额叶,以备指标的测定。

1.2 实验方法

1.2.1 组织匀浆 组织匀浆依照 Liu et al (2002) 的方法。取适量海马、纹状体和前额叶组织称重后分别放入 1 mL 组织匀浆器中,各加入 0.1 mol/L 高氯酸 1 mL 和 0.05% Na_2EDTA 混合水溶液 1 mL,冰浴下匀浆。将匀浆液置于 MIKRO22R 型超速冷冻离心机 (德国生产),4℃ 条件下 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液分装,置入 -20℃ 保存备用。

1.2.2 单胺类神经递质的测定 高香草酸、去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺的测定均参照 Liu et al (2002) 的方法。测定时,先将上面冷冻保存的海马、纹状体和前额叶组织匀浆上清液平衡至室温,用 LA-6A 型高效液相色谱仪进行液相色谱分析,测定其含量。液相色谱分析条件为:色谱柱: LiChrosorb C_{18} , 10 μm (250 mm $\times$ 4.6 mm); 柱温: 40℃, 柱压: 1.098×10^4 kPa; 流动相: 甲醇: 水 = 40: 60, 含 0.028 g/L EDTANa_2 , 0.15 g/L SDS, 0.2 ml/L H_2SO_4 , pH2.5—3; 流速: 1.0 mL/min; 进样 20 μL 。用 SPD-6AV 荧光检测器进行检测,荧光检测波长: $\lambda_{\text{EX}} = 285$, $\lambda_{\text{EM}} = 333$; 灵敏度: 高; 范围: 32; 响应: M。用日本岛津 C-R4A 数据处理机进行综合分析,纸速 2 mm/min。使用外标法,峰高定量。高香草酸、去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺所用标准品由济南金泰制药厂提供。

实验所得数据采用 SPSS 10.0 统计软件包中的 Independent-Samples *T* Test 进行分析,差异显著性均以 0.05 为标准,所有的结果均以平均值 $\pm$ 标准误差来表示。

2 结果

2.1 日增重变化

慢性应激对大鼠的生长有显著影响 ($t = 2.973$, $P = 0.011$)。应激处理 7 天后,大鼠的日增重明显下降 (图 1A)。而合欢花对经过应激处理

的大鼠日增重有显著的促进作用 ($t = -4.641$, $P = 0.002$), 合欢花组的日增重明显高于应激组 (图 1B)。

2.2 脑组织中单胺类神经递质含量的变化

慢性应激对大鼠海马、纹状体和前额叶中高香草酸、去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺的含量均无显著影响 ($P > 0.05$) (图 2: A、B、C、D)。虽然应激处理后上述 3 种脑组织中的高香草酸的含量均有升高的趋势, 但未达到显著水平。

合欢花组大鼠海马中的高香草酸含量明显高于应激组, 而海马中去甲肾上腺素以及纹状体和前额叶中的高香草酸和去甲肾上腺素含量与应激组相比, 均无明显变化 (图 3: A 和 B)。合欢组多巴胺

含量明显高于应激组, 而其 5-羟色胺的含量在这两组间无明显变化; 合欢花组前额叶中多巴胺和 5-羟色胺的含量以及纹状体中 5-羟色胺的含量却比应激组明显降低; 纹状体中多巴胺含量在两组间无显著差异 (图 3: C 和 D)。

3 讨论

3.1 合欢花对慢性应激大鼠生长的影响

本研究表明, 给大鼠断水、禁食、夹尾、高/低温下强迫游泳、昼夜颠倒和水平震荡相结合的慢性应激刺激, 能明显降低大鼠的生长。Jentoft et al (2005) 在鱼类的研究中发现, 操作处理能明显降低欧亚河鲈 (*Perca fluviatilis*) 和虹鳟 (*On-*

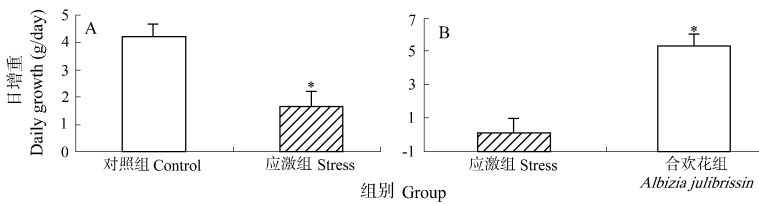


图 1 应激 (A) 和合欢花 (B) 处理后大鼠生长的差异 (均值 ± 标准误)

Fig. 1 The growth difference of stressed rats and *Albizia julibrissin* treated rats ($M \pm SE$)

* $P < 0.05$ (t 检验, 对照组与应激组间、应激组与合欢花组差异显著)。
* $P < 0.05$ (t Test, growth is significantly different between the control and stressed groups and between the stressed and *Albizia julibrissin* treated groups).

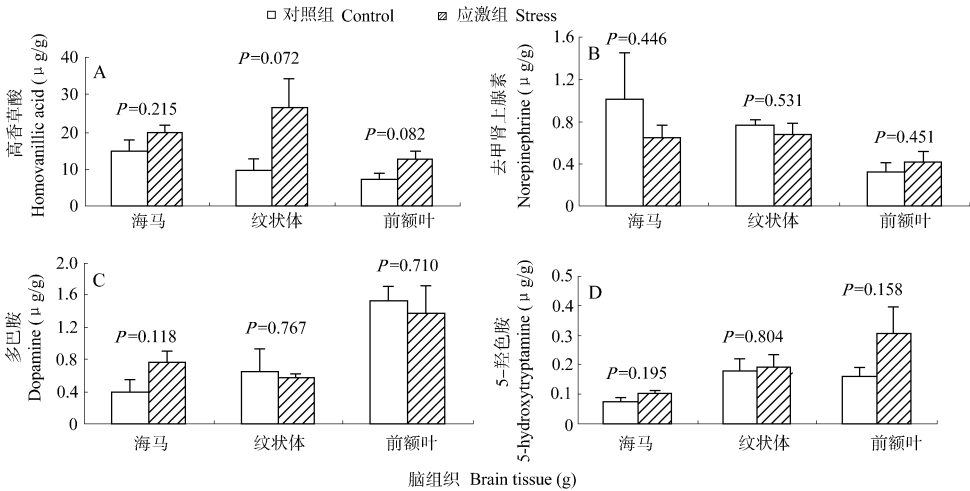


图 2 应激对大鼠脑组织中的单胺类神经递质含量的影响 (均值 ± 标准误)

Fig. 2 Effects of stress on monoamine neurotransmitter levels of brain tissue in rats ($M \pm SE$)

A: 高香草酸的含量 (Homovanillic acid levels); B: 去甲肾上腺素的含量 (Norepinephrine levels); C: 多巴胺的含量 (Dopamine levels); D: 5-羟色胺的含量 (5-Hydroxytryptamine levels).

P 值表示同一脑组织对照组与应激组之间的比较 (t 检验)。
P values are the comparative results of both the control and stressed groups in the same brain tissues (t test).

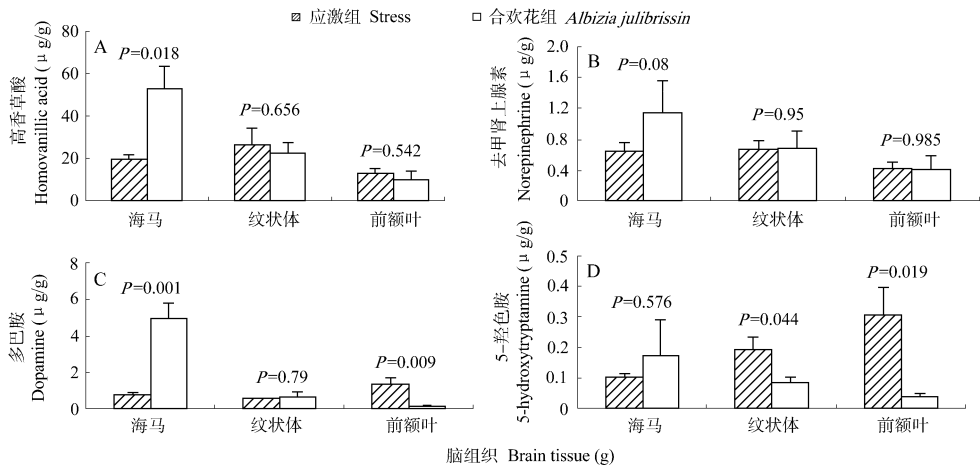


图 3 合欢花对应激大鼠脑组织中单胺类神经递质含量的影响 (均值 ± 标准误)

Fig. 3 Effects of *Albizia julibrissin* on monoamine neurotransmitter levels of brain tissue in stressed rats (M ± SE)

A: 高香草酸的含量 (Homovanillic acid levels); B: 去甲肾上腺素的含量 (Norepinephrine levels); C: 多巴胺的含量 (Dopamine levels); D: 5-羟色胺的含量 (5-Hydroxytryptamine levels).
P 值表示同一脑组织应激组和合欢花组之间的比较 (t 检验).
P values are the comparative results of both stressed and *Albizia julibrissin* treated groups in the same brain tissues (t test).

corhynchus mykiss) 的生长。让猫反复出现在怀孕大鼠面前, 使大鼠处在慢性应激状态下, 大鼠所产仔鼠的生长明显降低, 且死亡率明显升高 (Lordi et al, 2000)。

本研究表明, 合欢花对慢性应激引起的大鼠生长下降有明显的改善作用。这说明合欢花有一定的抗抑郁作用。Li et al (2003) 的工作表明, 合欢花的水提物能明显对抗强迫游泳和悬尾实验造成的“行为绝望”模型小鼠的绝望行为, 使不动时间缩短。抗应激的机制和有效作用部位等都有待于进一步探讨。

3.2 合欢花对慢性应激大鼠脑单胺类神经递质及其代谢物含量的影响

本研究发现, 慢性应激刺激 10 天后, 海马、纹状体和前额叶中的高香草酸虽有升高的趋势, 但都无明显变化; 而这 3 种脑组织中的去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺都无明显变化。Guo et al (2005) 的工作表明, 抑郁应激能明显减少大鼠海马中的 5-羟色胺的含量, 提高其海马中高香草酸的含量, 但对多巴胺和去甲肾上腺素无明显影响。Chen et al (2005) 发现, 慢性应激抑郁能降低大鼠额叶皮质内 5-羟色胺、海马内 5-羟色胺及多巴胺、纹状体内多巴胺、下丘脑内 5-羟色胺含量。产前心理应激可导致大鼠下丘脑、海马和大脑皮层

的 5-羟色胺水平升高 (Fan & Yue, 2005)。从现有的这些报道来看, 研究结果并不一致, 这可能与应激刺激因子、强度和时间不同有关。目前, 关于抑郁症的发病机制仍处于假说阶段, 比较公认的中枢单胺递质减少假说认为, 抑郁症的发生与突触间隙中的中枢单胺类神经递质 5-HT、NE 水平的降低有关。因为临床采用选择性 5-HT 重吸收抑制剂或 NE 重吸收抑制剂均可缓解临床抑郁症状 (Guo et al, 2005), 但这并不能全面地解释抑郁症的机制。许多研究证明, 抑郁的发生可能与 5-HT、NE、DA 之间的失衡关系更为密切 (Jin et al, 1999), 抑郁症的发生与海马关系密切, 海马是介导应激反应的最重要的脑区之一, 既能调节应激反应, 又受到应激反应的影响, 慢性应激可引起海马结构及功能的损害, 最终导致抑郁症的发生 (Yu, 2001)。

本实验表明, 合欢花能提高慢性应激处理大鼠海马中的高香草酸和多巴胺的含量, 降低前额叶多巴胺和 5-羟色胺以及纹状体 5-羟色胺的含量。这说明合欢花能改变慢性应激大鼠脑内单胺类神经递质的水平。这些结果说明, 合欢花有类似抗慢性应激的功效, 它可能是通过调节慢性应激大鼠不同脑区内单胺类来发挥作用。在其他一些抗抑郁应激的研究中发现, 磁刺激治疗能降低抑郁症模型大鼠额叶皮质内 DA 含量, 提高纹状体、海马内 DA 含

量和海马内 5-HT 含量 (Wang & Zhou, 2000)。Guo et al (2005) 的工作表明, 醒脾开郁中药方, 可明显升高慢性应激抑郁大鼠海马 5-HT 以及皮层 5-HT 的含量, 降低海马高香草酸的含量; 并认为醒脾开郁中药方是通过降低海马和皮层 5-HT 及 DA 的代谢, 相对升高海马 5-HT、DA 及皮层 5-HT 含量而发挥抗抑郁作用。这些结果说明, 不同的抗应激因子可能通过不同的途径发挥作用。

抑郁症的发生与中枢单胺类神经递质关系密切, 而 NE 能神经元、5-HT 能神经元及 DA 神经元

之间相互联系、相互影响, 抑郁症的发生并非仅仅限于某一类递质含量的降低, 众多神经递质的代谢紊乱及其关系失衡可能是导致抑郁症发生的主要原因。单胺类神经递质含量变化又可通过不同药物调节改善中枢神经系统的稳定平衡 (Duine et al, 1998; Huanget al, 1999)。合欢花很可能从多方面来调节中枢单胺类神经递质之间的关系, 通过协调 5-HT、DA 及高香草酸之间的平衡, 以实现其抗应激抑郁的功能。

参考文献:

- Chen YP, Mei YW, Sun SG, Bao M, Yu SC. 2005. Effects of low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on the behavior and cerebral monoamine neurotransmitter in the rats model of chronically depressive stress [J]. *Chin J Phys Med Rehabi*, **27** (12): 724–727. [陈运平, 梅元武, 孙圣刚, 包敏, 俞善纯. 2005. 低频重复经颅磁刺激对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响. 中华物理医学与康复杂志, **27** (12): 724–727.]
- Duine JM, Floch F, Cann-Moisson C, Mialon P, Caroff J. 1998. Simultaneous measurement of monoamines, their metabolites and 2, 3- and 2, 5-dihydroxybenzoates by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. Application to rat brain dialysates [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, **716** (1–2): 350–353.
- Fan FL, Yue YF. 2005. Effects of gestational psychological stress on the offspring [J]. *Foreign Med Sci (Section of Maternal and Child Health)*, **16** (1): 21–23. [范粉灵, 岳亚飞. 2005. 孕期心理应激对其子代的影响. 国外医学·妇幼保健分册, **16** (1): 21–23.]
- Guo J, Gao Y, Zhu LQ, Wang SR, Wang YY. 2005. Effect of Xinpikayiu Formula on central monoamine neurotransmitters in rat model of depression [J]. *J Beijing Univ Traditional Chinese Med*, **28** (3): 55–57. [郭静, 高颖, 朱陵群, 王硕仁, 王永炎. 2005. 醒脾开郁方对抑郁症大鼠模型的中枢单胺类递质的影响. 北京中医药大学学报, **28** (3): 55–57.]
- Huang W, Chen Y, Shohami E, Weinstock M. 1999. Neuroprotective effect of rasagiline, a selective moniamine oxidase-B inhibitor, against closed head injury in the mouse [J]. *Eur J Pharmacol*, **366** (2–3): 127–135.
- Li ZP, Zhao D, Ren LM, Zhu ZN. 2003. Preliminary studies on antidepressant effect of flower of *Albizia julibrissin* durazz [J]. *J Hebei Med Univ*, **24** (4): 214–216. [李作平, 赵丁, 任雷鸣, 朱忠宁. 2003. 合欢花抗抑郁作用的药理实验研究初探. 河北医科大学学报, **24** (4): 214–216.]
- Lin YC, Hsieh MT, Chen CF, Cheng HY, Peng WH. 2003. Anxiolytic effect of ting-chih-wan in mouse behavior models of anxiety [J]. *Am J Chin Med*, **31** (1): 47–59.
- Liu SL, Zhang ZL, Liu XX, Liu CH, Zhang F, Qin YJ, Qin WP. 2002. Research on testing method for monomine transmitters and metabolite in rat brain tissue [J]. *J Shandong Univ (Health Sci)*, **40** (5): 472–475. [刘师莲, 张兆莲, 刘贤锡, 刘传华, 张峰, 秦延江, 祈维平. 2002. 大鼠脑组织单胺类递质及其代谢产物的检测方法研究. 山东大学学报 (医学版), **40** (5): 472–475.]
- Lordi B, Patin V, Protais P, Mellier D, Caston J. 2000. Chronic stress in pregnant rats: Effects on growth rate, anxiety and memory capabilities of the offspring [J]. *Int J Psychophysiol*, **37** (2): 195–205.
- Jentoft S, Aastveit AH, Torjesen PA, Andersen O. 2005. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, **141** (3): 353–358.
- Jin GL, Zhou DF, SU J. 1999. The effect of electro-acupuncture on chronic stress-induced depression rat brain's monoamine neurotransmitters [J]. *Chin J Psychiatry*, **32** (4): 220–222. [金光亮, 周东丰, 苏晶. 1999. 电针对慢性应激抑郁模型脑单胺类神经递质的影响. 中华精神科杂志, **32** (4): 220–222.]
- Peng WH, Wu CR, Chen CS, Chen CF, Leu ZC, Hsieh MT. 2004. Anxiolytic effect of berberine on exploratory activity of the mouse in two experimental anxiety models: Interaction with drugs acting at 5-HT receptors [J]. *Life Sci*, **75** (20): 2451–2462.
- Wang XM, Zhou SS. 2000. The study progress about therapy depression by repeat transcranial magnetic stimulate [J]. *Chin J Phys Med Rehabi*, **22**: 248–249. [王晓明, 周树舜. 2000. 重复经颅磁刺激治疗抑郁症的研究进展. 中华物理医学与康复杂志, **22**: 248–249.]
- Yu DS. 2001. The base about biochemistry and anatomization of depression [J]. *Sichuan Mental Health*, **14** (1): 60–62. [喻东山. 2001. 抑郁症的生化和解剖基础. 四川精神卫生, **14** (1): 60–62.]
- Zhu XF. 2002. Immunoradioassay and analysis of stress hormones in depression patient [J]. *J Med Theory Practice*, **15** (12): 1407–1408. [朱晓峰. 2002. 抑郁病人的应激激素测定及变化分析. 医学理论与实践, **15** (12): 1407–1408.]
- Zhou XQ, Qiao X. 2004. Effects of vitamin C polyphosphate on anti-heat stress ability in mice [J]. *Zoo Res*, **25** (5): 447–451. [周显青, 乔欣. 2004. 维生素 C 多聚磷酸酯对小鼠抗热应激能力的影响. 动物学研究, **25** (5): 447–451.]